

일반생물학실험2 레포트 3

실험 9. 환경오염 / 수질검사

일반생물학실험2 10분반 20241121 이다은

I. Abstract

본 실험에서는 수질의 유기오염도와 수질 특성을 분석하기 위해 BOD, COD, pH분석과 MacConkey Agar배지를 활용한 세균학적 수질 검사를 수행하였다. BOD₅ 측정 실험 결과, DIW와 수돗물은 낮은 BOD값을 가지는 것을 보아 생분해성 유기물이 거의 존재하지 않았던 반면, 정수기물과 한강물은 상대적으로 높은 BOD 값을 가져 유기물 농도가 높고 미생물 분해가 활발한 시료라는 것을 알 수 있었다. KMnO₄를 활용한 COD 측정 실험에서는 DIW는 대조군(control)으로 사용되어 값이 0 mg/L로 간주되었으며, 정수물과 한강물은 모두 COD 1 mg/L 이하로 1급수 기준에 해당하였다. 다만 두 시료에서 COD가 음수로 측정된 것은 실제 음의 COD를 의미하는 것이 아니라, 시료 내 환원성 유기물이 매우 적거나 적정 과정에서의 실험적 오차에 의해 발생한 것으로 해석된다. 수돗물의 COD는 3 mg/L 이하로 2급수 수준을 보였다. pH 결과는 모든 시료가 정상 범위 내에 위치하여 pH만으로는 수질 오염의 특성을 명확히 구분하기 힘들다. MacConkey Agar 배양 결과, DIW는 colony가 관찰되지 않았으며 수돗물과 정수기물에서도 colony 형성이 거의 나타나지 않아 세균학적 오염 수준이 낮은 것으로 평가되었다. 반면 한강물에서는 lactose 발효성 및 비발효성 Gram-negative 세균이 모두 관찰되어 상대적으로 높은 오염도를 보였다. 종합적으로, 본 연구는 물리·화학적 지표(BOD, COD, pH)와 세균학적 지표를 통합적으로 분석함으로써 한강 시료가 다른 수원보다 유기물 및 미생물 오염 부담이 높다는 것을 확인하였으며, 세 가지 분석 방법의 상호보완적 활용이 수질 평가의 신뢰도를 향상시킬 수 있음을 시사한다.

II. Introduction

수질 오염은 생활하수, 축산분뇨, 산업폐수, 토지 이용 변화 등 다양한 인위적 활동과 자연적 요인에 의해 발생하며, 이는 수중 생태계의 붕괴, 용존산소 감소, 부영양화, 악취 및 수인성 질병 유발 등 광범위한 환경·보건학적 문제를 초래한다 (Chidiac et al., 2023). 특히 유기물 오염은 미생물 분해 과정에서 산소를 급격히 소모시켜 하천의 산소 균형을 무너뜨리고, 어류 폐사 및 서식지 악화를 야기하는 주요 원인으로 알려져 있다 (Vigiak et al., 2019). 이러한 이유로 전 세계적인 수질 모니터링 체계는 물리·화학·생물학적 지표를 종합적으로 활용해 수질을 정량 평가하며, 그중에서도 DO, BOD, COD, pH, 세균학적 지표는 유기오염·화학오염·분변오염의 특성을 대표하는 핵심 변수들로 가장 널리 사용된다 (Aguilar-Torrejón et al., 2023).

우선 DO(Dissolved Oxygen) 즉 용존산소는 물 속에 녹아있는 산소의 양을 의미한다. 용존산소는 대기 중의 산소의 용해, 물리적 혼합 등에 의해 공급되고 미생물의 분해, 호흡, 산화 등에 의해 소비된다. DO의 농도가 높을 시 수중 생물의 호흡이 원활하고 생태계가 안정적으로 유지될 수 있는 환경이라는 것을 의미하고 DO의 농도가 낮다는 것은(특히 3mg/L 이하) 물 속의 생물들의 생존이 위협받을 수 있는 환경일 수 있다는 것을 의미한다. 이러한 DO의 단위는 ppm으로 나타내는데 이는 미량으로 존재하는 물질의 농도를 나타낼 때 쓰인다. (1ppm = 1 mg/kg = 1 g/t) DO는 오염 발생 후 가장 즉각적으로 변화하는 지표 중 하나로, 생물학적 분해 과정의 결과를 실시간으로 반영하기 때문에 이는 핵심 환경 지표로 널리 사용되고 있다.

또한 BOD(Biochemical Oxygen Demand) 즉 생물학적 산소요구량은 물속의 미생물이 유기물을 분해하는 과정에서 소비하는 산소량을 의미하며 생분해 가능한 유기물의 양을 정량적으로

나타내는 오염지표이다. BOD가 높을 때는 유기물 농도가 높아 미생물의 호흡 및 분해활동이 활발하다는 의미이고 결과적으로 산소 소비율이 증가하여 DO가 빠르게 감소할 수 있다. 반대로 BOD가 낮을 때에는 생분해성 유기물이 적은 상황임을 의미하므로 오염도가 낮음을 의미한다. BOD의 장점은 생태계에 실제로 부담을 주는 '생분해 가능한 유기물량'을 직접 반영한다는 점이지만, 측정에 5일이라는 긴 시간이 필요하며 온도·미생물 농도 등의 외부 요인에 따라 변동이 크다는 한계가 있다. BOD는 DO와 밀접한 상관관계를 가지며 두 지표는 일반적으로 반비례 관계를 보인다.

화학적 산소요구량 즉 COD(Chemical Oxygen Demand)는 물속에 존재하는 유기물을 강한 산화제로 화학적으로 산화시킬 때 필요한 산소의 양을 의미한다. COD 값이 높다는 것은 산화 가능한 유기물질이 많이 존재함을 의미한다. 반대로 COD가 낮으면 산화될 수 있는 유기물의 총량이 적다는 의미로, 비교적 오염도가 낮은 상태임을 시사한다. 다만 COD는 모든 유기물을 화학적으로 산화시키기 때문에, 실제 미생물이 분해 가능한 유기물만 반영하는 BOD와 달리 난분해성 물질까지 포함하여 측정된다.

BOD와 COD는 모두 유기오염을 평가하는 핵심 지표이지만 차이점이 존재한다. BOD는 분석에 5일이 필요하지만 COD는 수 시간 내로 측정이 가능하다. 또한 BOD는 생분해성 유기물만 반영하는 반면, COD는 난분해성 유기물까지 포함하는 전체 유기물량을 측정하므로 일반적으로 COD 값이 BOD보다 크게 나타난다. 따라서 COD와 BOD는 유기물의 총량과 생물학적 처리 가능성 함께 평가하여 수계 오염의 원인과 심각도를 종합적으로 판단하는 데 필수적인 지표로 활용된다.

Table 1. BOD와 COD의 개념 및 측정 특성 비교

구분	BOD	COD
측정 원리	미생물 분해	화학적 산화
측정 시간	5일	2시간 내
포함 유기물	생분해성 유기물	모든 유기물

이 표는 BOD와 COD의 측정 원리, 분석 소요 시간, 그리고 반영되는 유기물의 범위와 같은 핵심 특성을 비교하였다.

수소이온 농도 지수인 pH는 단순한 산성·알칼리성 지표를 넘어, 유기물 부하·중금속 독성·조류 성장 등 수체 내 여러 오염 현상의 초기 신호를 포착할 수 있는 수질오염 초기 진단 지표이다. 산업폐수는 강한 산성 또는 알칼리성을 띠는 경우가 많아 방류 시 수체의 pH를 급격히 변화시키고, 유기물 오염이 증가할 경우 미생물 분해 과정에서 생성되는 CO₂가 물속에서 탄산으로 전환되어 산성화를 일으킨다. 반대로, 조류 번성이 발생한 시기에는 강한 광합성 활동으로 CO₂가 소비되어 수체가 알칼리화되는 경향을 보인다. 이러한 이유로 pH는 유기물 오염, 산업 오염, 조류 폭발 등 다양한 환경 변화에 가장 빠르게 반응하는 지표로 작용한다.

세균학적 수질 검사는 물속에 존재하는 병원성 또는 분변성 미생물의 오염 여부를 판단하기 위한 필수적인 평가 방법으로, 총대장균군과 분변계대장균은 가장 널리 사용되는 지표군이다. 대장균군은 흔히 존재하는 미생물이지만 자연수계에 고농도로 나타나는 경우 분변성 오염을 의미하고 이는 설사·장염·발열성 질환 등 다양한 수인성 전염병을 유발할 수 있어 중요한

지표이다. 검사의 정확성을 높이기 위해서는 단순한 총대장균 검출뿐만 아니라, 분변성 장내세균의 선택적 분리가 가능한 배지를 사용하는 것이 중요하다. MacConkey agar는 이러한 목적을 위해 가장 널리 활용되는 Gram-negative 선택지표 배지이다.

따라서 본 실험에서는 수질 시료에 대해 DO, BOD, COD, pH 및 MacConkey Agar를 통해 장내 병원균을 측정하고, 각 지표의 측정 원리와 결과를 비교·분석함으로써 유기오염 수준과 분변오염 여부를 정량적으로 평가하고자 한다. 하천의 수질 판정 기준은 다음과 같다.

Figure 2. 하천 수질 판정을 위한 BOD, COD, DO 및 pH기준

수질 등급	BOD 기준 (mg/L)	COD 기준 (mg/L)	DO 기준 (mg/L)	pH	특징
1급수	≤ 1	≤ 1	≥ 7.5	6.5–8.5	매우 깨끗함
2급수	≤ 3	≤ 3	≥ 5	6.5–8.5	비교적 깨끗함
3급수	≤ 6	≤ 6	≥ 5	6.5–8.5	약간 오염된 물
4급수	≤ 8	≤ 8	≥ 2	6.0–8.5	심한 오염
5급수	≤ 10	≤ 10	≥ 2	6.0–8.5	매우 심한 오염

수질 등급(1~5급수) 판정을 위해 사용되는 BOD, COD, DO, pH 지표의 기준값과 등급별 특징을 정리한 표이다.

III. Materials and Methods

COD, BOD, pH, MacConkey Agar을 활용한 세균학적 수질검사를 진행하였다. 모든 실험에서의 시료는 한강물, 수돗물, 정수기물, control로 DIW도 사용한다. COD 실험에서는 황산, 황산은, KMnO₄, 옥살산나트륨(Na₂C₂O₄), 삼각플라스크와 코니컬 튜브와 시료, 수용이 쓰였고 BOD 실험에서는 종류수 1L 및 시약, 시료, 코니컬 튜브, DO Meter가 쓰였다. pH실험에서는 pH meter, 코니컬 튜브와 시료를 사용하였고 세균학적 수질검사에는 알코올 램프, MacConkey agar, Sterile loop, loop를 소독하는 용도의 에탄올, 코니컬 튜브와 시료를 사용하였다.

COD는 강산성 조건에서 KMnO₄가 시료 내 환원성 물질을 산화시키는 원리를 이용하며, 남은 KMnO₄를 Na₂C₂O₄로 역적정하는 과정을 통해 소비된 KMnO₄의 양을 통해 COD를 산출할 수 있다. COD 측정 실험의 과정은 다음과 같다. 125ml 용량의 삼각 플라스크에 시료 15㎖를 넣고, 용액의 총 부피가 50㎖가 되도록 종류수를 추가로 넣는다. control로는 종류수를 사용하기 위해 50㎖ 준비한다. 이후 각각의 플라스크에 황산 5㎖를 넣었다. 황산의 경우 직접 취급할 시 위험할 수 있으므로 사전에 준비된 희석 황산 용액을 사용하였다. 이후 황산은(Ag₂SO₄) 분말을 측매로 약 0.2g 넣은 후 은박지로 플라스크의 입구를 막은 후 섞은 후 약 10분 간 반응시켰다. 0.025 N-KMnO₄ 용액 5㎖를 넣은 후 같은 방법으로 플라스크를 흔들어 섞어준다. 이후 끓는 물이 담긴 수용에서 30분간 중탕으로 가열하였다. 중탕이 끝난 후 옥살산나트륨(Na₂C₂O₄) 용액을 가하여 미반응 KMnO₄와 반응시킨다. 이후 0.025 N-KMnO₄ 용액으로 적정하여 삼각 플라스크 내의 무색의 용액이 색깔 변화가 나타날 때까지 적정한다. 아래 식을 이용하여 COD를 계산하고, 결과를 ppm 단위로 정리한다.

$$\text{COD(ppm)} = (b - a) \times f \times \frac{1000}{V} \times 0.2$$

이 식에서의 a는 control(DIW) 시료 적정 시 소비된 0.025N-MnO₄ 용액의 양 즉 DIW 적정 시 소비된 0.025N-MnO₄ 용액의 양이다. b는 시료 적정 시 소비된 0.025 N-KMnO₄ 용액의 양, f는

factor의 줄임말로 0.025 N-KMnO₄ 용액의 역가 즉, 보정계수이고 여기서는 1이다. V는 실험에 사용한 시료의 양이고 상수인 0.2는 0.025 N-KMnO₄ 용액 1mL가 이론적으로 산화할 수 있는 산소량에 해당하는 산소 등가량이다.

다음으로는 BOD측정 실험을 진행했다. BOD는 시료 내 존재하는 생분해성 유기물이 호기성 미생물에 의해 산화되는 과정에서 용존 산소량이 얼마나 소비되는가를 측정하는 지표이다. BOD측정 실험의 과정은 다음과 같다. 종류수 1L에 시약 A,B,C,D를 각각 1mL 가하여 만든 희석수를 사용했다. 시약 A는 Phosphate buffer solution이고 B는 Magnesium sulfate solution, C는 Calcium chloride solution, D는 Ferric chloride solution이다. 희석수는 pH가 7.2로 조정된 사전 조제 용액을 사용하였다. 이후 희석수랑 시료를 코니컬 튜브에 각각 50 mL씩 담은 후 별도의 교반장치를 사용하지 않고 여러 차례 inversion하여 균일하게 혼합하였다. BOD병에 위 혼합액을 가득 넣은 후 랩을 씌워 공기 방울이 안생기게 밀폐하였다. 남은 시료 희석액은 미생물 분해 및 산소 소비가 일어나기 전의 시료 안의 실제 산소량을 측정하기 위해 따로 DO를 측정한다. 이후 밀폐한 BOD 병을 20°C에서 5일간 암조건에서 배양한 후, 배양이 끝난 시료의 DO를 측정한다. 본 실험에서는 시료를 일정 비율로 희석한 뒤 초기 DO와 5일 배양 후 DO를 측정하였다. 일반적으로 BOD 계산에서는 희석 계수와 시료 부피 보정을 포함한 다음 식을 사용하여 계산한다. f는 희석수 및 DO측정에 대한 보정계수이고 여기서는 1이다. V_{total} 은 BOD병에 들어있는 혼합 용액의 전체 부피이고 V_{sample} 은 혼합 용액 중 실제 시료가 차지하는 부피이다.

$$BOD_5(mg/L) = \frac{(DO_1 - DO_5) \times f \times V_{total}}{V_{sample}}$$

그러나 본 실험에서는 모든 조건에서 동일한 희석비를 적용했기 때문에 시료간 상대적 비교만을 위해서는 DO변화량만으로 충분하기에 본 보고서에서는 단순히 초기 용존 산소 값인 DO₁와 5일 동안 배양한 후의 용존 산소 값인 DO₅의 차이 즉 DO변화량만을 활용한다.

pH 측정 실험에서는 표준 용액으로 사전 보정된 pH meter를 사용하여 시료의 pH를 측정했다. 각 시료의 pH 측정이 끝난 후 전극을 DIW로 세척한 후 lint-free laboratory tissue (보풀 없는 실험실용 티슈)로 닦아 건조해주었다. 측정이 끝난 후에는 다시 DIW로 세척하고 laboratory tissue로 닦은 후 storage buffer(보관용 완충 용액)에 담아 보관하였다.

세균학적 수질 검사는 MacConkey agar plate을 사용하였다. 모든 과정은 알코올 램프를 점화하여 형성된 무균대 근처에서 수행하여 공기 중 미생물로 인한 오염 가능성을 최소화하였다. 시료를 도말하기 전에는 멸균 루프를 에탄올에 적신 후 알코올 램프를 이용하여 소염 후 루프를 가열하여 멸균하였다. MacConkey agar plate에 소독한 멸균 루프로 시료 적절량을 도말한 후, 37°C에서 2 overnights(약 48시간)로 배양하였다.

IV. Results

Table 3. 샘플 별 BOD값 (단위: mg/L) 및 이에 따른 수질 등급

	Start DO (mg/L)	5 days after DO (mg/L)	ΔDO	BOD (mg/L)	수질 등급
DIW	8.65	8.44	0.21	0.42	1급수
수돗물(Tap)	8.78	8.49	0.29	0.58	1급수
정수물(FW)	9.01	7.42	1.59	3.18	3급수

한강물(Han)	9.30	8.02	1.28	2.56	2급수
----------	------	------	------	------	-----

DIW의 경우 DO 값의 차이는 $\Delta DO = DO_{0,DIW} - DO_{5,DIW} = 8.65 - 8.44 = 0.21(\text{mg/L})$ 이다.

수돗물의 경우 DO 값의 차이는 $\Delta DO = DO_{0,Tap} - DO_{5,Tap} = 8.78 - 8.49 = 0.29(\text{mg/L})$ 이다.

정수물의 경우 DO 값의 차이는 $\Delta DO = DO_{0,FW} - DO_{5,FW} = 9.01 - 7.42 = 1.59(\text{mg/L})$ 이다.

한강물의 경우 DO 값의 차이는 $\Delta DO = DO_{0,Han} - DO_{5,Han} = 9.30 - 8.02 = 1.28(\text{mg/L})$ 이다.

수질 등급 결정을 위한 BOD_5 계산을 진행하였다. 사용한 수식은 다음과 같다.

$$BOD_5(\text{mg/L}) = \frac{(DO_1 - DO_5) \times f \times V_{total}}{V_{sample}}$$

이번 실험에서의 모든 시료의 V_{sample} 의 값은 50mℓ이고 V_{total} 의 값은 100mℓ이고 f는 1이다.

그러므로 $\frac{f \times V_{total}}{V_{sample}} = \frac{1 \times 100}{50} = 2$ 이다. 즉 각 $\Delta DO \times 2$ 가 BOD_5 이다.

DIW의 BOD_5 는 다음과 같다.

$$BOD_{5,DIW} = \Delta DO \times 2 = 0.21 \times 2 = 0.42(\text{mg/L})$$

수돗물의 BOD_5 는 다음과 같다.

$$BOD_{5,Tap} = \Delta DO \times 2 = 0.29 \times 2 = 0.58(\text{mg/L})$$

정수물의 BOD_5 는 다음과 같다.

$$BOD_{5,FW} = \Delta DO \times 2 = 1.59 \times 2 = 3.18(\text{mg/L})$$

한강물의 BOD_5 는 다음과 같다.

$$BOD_{5,Han} = \Delta DO \times 2 = 1.28 \times 2 = 2.56(\text{mg/L})$$

DIW와 수돗물의 BOD_5 는 1(mg/L) 이하이므로 1급수이고 한강물의 BOD_5 는 3(mg/L)이하이므로 2급수, 정수물의 BOD_5 는 5(mg/L) 이하이므로 3급수이다.

Table 4. 샘플 별 COD값 (단위: mg/L) 및 이에 따른 수질 등급

	적정횟수	적정량(mℓ)	COD (mg/L)	수질 등급
DIW	10	1.0	0	-
수돗물	11	1.1	1.33	2급수
정수물	3	0.3	-9.33	1급수
한강물	6	0.6	-5.33	1급수

COD계산 식은 다음과 같다.

$$COD(\text{ppm}) = (b - a) \times f \times \frac{1000}{V} \times 0.2$$

이 실험에서는 f=1, 실험에 사용한 시료의 양인 V=150이다.

그러므로 $COD = (b - a) \times 66.666\ldots \times 0.2 = (b - a) \times 13.333\ldots \approx (b - a) \times 13.33$ 이다.

정리된 $COD = (b - a) \times 13.33$ 식을 활용하여 각 시료 별 COD를 계산하여 보면 다음과 같다.

DIW의 COD는 다음과 같다.

$$(b - a) = 1.0 - 1.0 = 0 \\ COD = 0 \times 13.33 = 0 \text{ mg/L}$$

수돗물의 COD는 다음과 같다.

$$(b - a) = 1.1 - 1.0 = 0.1$$

$$COD = 0.1 \times 13.33 = 1.33 \text{ mg/L}$$

정수물의 COD는 다음과 같다.

$$(b - a) = 0.3 - 1.0 = -0.7$$

$$COD = -0.7 \times 13.33 = -9.33 \text{ mg/L}$$

한강물의 COD는 다음과 같다.

$$(b - a) = 0.6 - 1.0 = -0.4$$

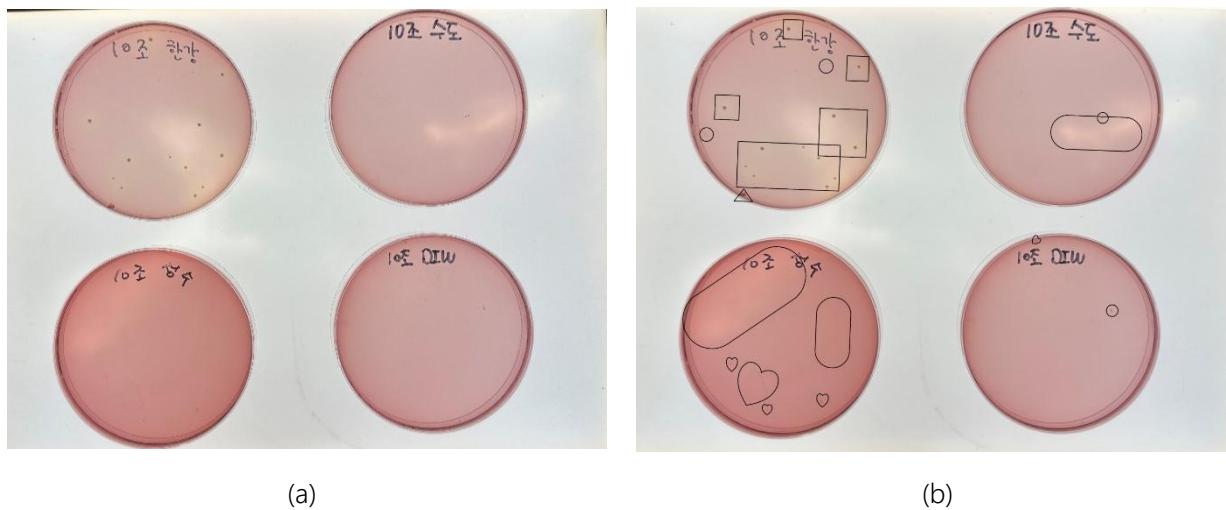
$$COD = -0.4 \times 13.33 = -5.33 \text{ mg/L}$$

정수물, 한강물의 COD 모두 1(mg/L) 이하이므로 1급수이고 수돗물의 COD는 3(mg/L) 이하이므로 2급수이다.

Table 5. 샘플 별 pH측정 결과

	pH
DIW	8.13
수돗물	7.36
정수물	6.65
한강물	7.30

시료 간의 pH차이는 있지만 모두 정상 범위 내로 pH만으로는 수질오염에 의한 변화를 발견하지 못하였다.



(a)

(b)

Figure 1 (a). 각 수질 시료를 도말한 MacConkey Agar의 37°C, 2 overnights(약 48시간) 배양한 결과

Figure 1 (b). 콜로니 분석을 위해 MacConkey Agar의 시각적 특징에 따른 분류

정수물 시료용 MacConkey agar plate는 초기 색조가 다른 plate보다 진한 편이었으며, 이는 이후 관찰되는 colony 형성과는 무관한 배지 고유 특성이다.

Figure 1 (a)를 시각적 특징에 따라 분류한 것이 Figure 1 (b)이고 총 5가지 특징을 확인할 수 있다

- Type A (square): 배지가 전체적으로 옅은 황색을 띠며, 그 위에 작은 점상(punctiform) colony가 12~14개 육안으로 확인가능함. 한강물 시료에서만 관찰됨.
- Type B (triangle): 불규칙한 형태의 colony로, Type A의 점상 집락보다 크기가 비교적 크다.

한강물 시료에서만 관찰 가능하다.

- Type C (circle): 초승달 형태의 검은 선. 한강, 수돗물, DIW에 공통적으로 관찰됨.
- Type D (rounded rectangle): 넓게 황색으로 변색되어 있는 영역으로 Type A와 달리 개별 집락은 보이지 않는다. 수돗물과 정수기물에서 관찰된다.
- Type E (heart): 속이 빈 원형 구조. 정수기 물과 DIW에서 일부 관찰된다.

Table 6. 수질 시료에서 확인된 콜로니 형태 유형 (A~E)

	Type A	Type B	Type C	Type D	Type E
DIW	X	X	O	X	O
수돗물	X	X	O	O	X
정수물	X	X	X	O	O
한강물	O	O	O	X	X

MacConkey 배지에서 확인된 콜로니 형태 유형(A-E)을 정리하였다. 형태 기준 및 유형 설명은 Figure 1(b)에 제시된 내용을 기반으로 하였다.

Table 7. 시료별 수질 지표(BOD, COD, pH)와 MacConkey 배지 콜로니 유형 요약

	BOD(mg/L)	COD(mg/L)	pH	수질 등급	MacConkey 배지 콜로니 유형
DIW	0.42	0	8.13	1등급	C,E
수돗물	0.58	1.33	7.36	1등급	C,D
정수물	3.18	-9.33	6.65	3등급	D,E
한강물	2.56	-5.33	7.30	2등급	A,B,C

표의 MacConkey 배지 콜로니 유형(A-E)은 Figure 1(b)의 분류 기준에 따라 구분하였다.

V. Discussion

이번 실험에서는 COD, BOD, pH, MacConkey agar을 통하여 한강물, 수돗물, 정수물, DIW의 유기물 오염도 및 수질 특성을 확인하고자 했다. Table 7에 정리되어있는 실험 결과에 따르면 DIW와 수돗물은 비교적 낮은 BOD 및 COD 값을 보여 1등급으로 판단할 수 있다. 반면, 정수물은 BOD가 3.18mg/L로 3등급 수준의 유기물 오염도를 보였고, 한강물은 BOD가 2.56 mg/L로 2등급에 해당하였다. 모든 시료가 pH는 정상 범위 내에 있었다. MacConkey 배지에서의 세균학적 결과는 한강물이 가장 많은 콜로니 유형을 보였다. BOD와 COD는 각각 생물학적, 화학적 산소 요구량을 나타내며, 이는 시료 내 유기물이 산소를 얼마나 소모할 수 있는지를 정량적으로 평가하는 핵심 지표이다. 따라서 본 연구에서 측정한 BOD와 COD 값은 각 시료의 유기물 오염도를 직접적으로 비교하는 기준이 된다.

우선 BOD를 통해 시료의 수질 특성에 대해 판단하자. Table 3에서 확인할 수 있듯, DIW와 수돗물은 BOD가 낮았다. 이는 DIW와 수돗물에 생분해성 유기물이 적게 분포하고 있음을 의미한다. '정수'된 물인 정수물과 한강물에서는 BOD가 높게 나타난다. 이는 유기물 농도가 높아 미생물의 호흡 및 분해활동이 활발하다는 의미하고 오염도가 높다고 해석할 수 있다. 또한 산소가 물 속으로 흡수되는 속도보다 소모되는 속도가 빠르면 물이 혼기성 상태가 되고 이

상태에서는 물고기의 개체 수가 감소하고 부패하여 유독성 물질이 생성될 수 있다. 또한, 본 실험의 배양 기간은 5일이고 BOD실험에서 NBOD는 일반적으로 BOD배양 7~10일 이후부터 본격적으로 증가하기 때문에 NBOD가 충분히 발현되기 전에 실험이 종료된다. 이를 통해 BOD5에서 CBOD가 우세할 것으로 예상할 수 있다. 그렇기 때문에 이번 실험의 BOD5는 대부분 CBOD 즉 탄소성 산화를 의미한다고 해석할 수 있다. 이를 통해 탄소성 유기물의 농도가 높고 유기탄소 오염이 발생했다는 것을 알 수 있다. 그러나 이는 NBOD 즉 질소성 오염이 없다는 것을 말하지는 않는다.

정수물의 BOD는 낮게 나올 것으로 예상했다. 예상과 다르게 BOD가 높게 나온 이유는 무엇일까? 이는 실험 오류에 의한 측정 오류이거나 정수기의 관리 미흡으로 인해 발생할 수 있다. 초기 DO 측정에 오류가 있거나 희석 과정의 문제로 측정 오차가 생겼을 수 있다. 정수기의 관리 미흡으로는 필터에 세균이 생기거나 교체 주기가 경과되어 필터의 유기물을 제거하는 능력이 감소하여 BOD가 높게 측정될 수 있을 것이다. 또한 컵이나 병을 대는 과정에서 외부의 세균이 정수기 내부로 역류하는 경우도 생각할 수 있다. 만약 MacConkey Agar에서 장내세균이 검출된다면 정수기의 역류오염을 의심할 수 있을 것이다.

그러나 BOD 지표는 한계가 있다. 우선 BOD₅ 실험은 20°C, 빛이 차단된 조건에서 배양한다. 이러한 환경은 시료가 빛과 산소와 닿는 것을 막아 광합성이 일어나지 않고 산소 교환도 일어나지 않는다. 자연계에서는 조류의 광합성과 조류 및 어류의 호흡을 통해 산소가 소비되고, 대기와의 산소 교환이 일어난다. 이는 실제 수체의 산소 환경을 반영하지 못하는 문제가 생긴다. 조류가 풍부한 수계의 경우에는 낮 동안 광합성으로 DO가 크게 증가할 수 있는데 이를 반영하지 못하는 문제가 생길 수 있다.

또한 BOD의 기본 가정은 시료 안에 유기물을 잘 분해할 수 있는 건강한 미생물이 있다는 것인데 만일 시료 안에 미생물의 증식을 억제하거나 생존을 위협할 수 있는 물질이 있다면 유기물이 많음에도 미생물이 분해하지 못해 BOD가 적게 측정되어 유기물이 적다고 해석될 수 있다. 미생물을 위협할 수 있는 독성이 있는 시료에서는 유기물 오염을 과소평가할 수 있는 문제가 있는 것이다. 5일 동안 측정하는 BOD₅의 경우 질소성 산소 요구를 반영하지 못한다는 한계가 있다. 또한 본 실험에서는 BOD측정을 위해 pH가 7.2로 일정히 유지되는 희석수를 만들었다. 이는 미생물 대사에 필수적이 무기 이온을 제공하기에 미생물의 안정적인 성장과 유기물 분해가 이뤄질 수 있는 환경을 만든다. 물론 이러한 방법은 BOD차이가 미생물의 활성 변동이 아니라 유기물 농도 차이에 의해 발생하도록 하기에 장점이 있지만 자연 상태에서는 다양한 요인이 미생물의 생존, 환경에 영향을 미치고 유기물의 분해 속도에도 영향을 미친다. 따라서 phosphate buffer와 MgSO₄, CaCl₂, FeCl₃, NH₄Cl로 구성된 표준 희석수를 활용하여 BOD₅를 추측하는 것은 자연 환경의 산소 고갈 속도 등을 반영한다고 보기 어렵다. 또한 사용한 희석수는 인위적으로 완충제와 영양염을 공급한 조건이기에 영양염이 부족한 경우와는 산소 소비 양상이 다를 수 있다.

BOD 지표와 더불어 유기물 오염도를 측정하는 COD 지표의 측정 결과는 Table 4에서 확인할 수 있듯 DIW의 경우에는 DIW를 control로 썼기에 0(mg/L)로 간주된다. 정수물과 한강물은 COD가 1(mg/L) 이하로 1급수로 판단할 수 있다. 또한 정수물과 한강물의 COD는 공통적으로 음수로 측정되었다. 이는 실제 음의 COD값을 의미하는 것이 아닌 시료 속 환원성 유기물이 매우 적거나 적정 과정의 실험적 오차가 개입된 결과로 해석할 수 있다. 수돗물의 COD는

3(mg/L)이하로 수돗물의 수질 등급은 2급수로 판단할 수 있다.

이러한 COD의 한계는 COD와 BOD의 차이가 생기는 이유기도 한, COD가 화학적 산화력에 기반한다는 것이다. 이는 COD의 측정 과정에서 무조건적으로 유기물을 산화하지만 실제 자연에서는 미생물이 분해 가능한 물질만 분해되기에 실제 생태계에서 사용하는 산소량과 다를 수 있다는 한계를 가진다. 또한 BOD와 같이, COD는 독성물질과 같은 미생물의 생존을 방해하는 물질에 의한 영향을 해석하기 힘들다. 또한 실험 결과에서 COD의 측정 결과가 음수가 나온 것에서 확인할 수 있듯, KMnO₄ 기반 COD측정 방식은 민감도가 낮아 유기물 농도가 낮은 시료 등에서는 음의 COD값이 나타나는 과소평가가 발생하기도 한다. 측정하는데 5일 정도 걸리는 BOD와 달리 2시간 정도의 비교적 짧은 측정 시간을 필요로 하는 COD는 유기오염의 총량을 빠르게 파악하는 데에는 유용하지만 실제 자연계에서의 생태학적인 영향을 판단하는데에는 한계가 있다.

BOD 지표와 COD 지표의 값은 COD는 화학적으로 산화 가능한 모든 화합물을 측정할 수 있는데 반해 BOD는 생분해성 유기물만 측정 가능하기에 같은 시료라도 COD의 값이 더 큰 것이 일반적이다. 하지만 본 실험에서는 Table 7에서 확인할 수 있듯 정수물과 한강물에서 COD값이 BOD 값보다 훨씬 적게 측정되었다. 실험에 오차가 없다고 가정하였을 때 이는 KMnO₄ 기반 COD측정 방식의 한계에서 기인한 것으로 해석할 수 있다. 실제 문헌에 따르면 KMnO₄ 방식 COD는 산화력이 제한적이어서 “모든 유기물을 완전히 산화하지 못하며, 따라서 COD 값이 실제보다 낮게 측정될 수 있다”고 보고되었으며, 또한 “KMnO₄는 낮은 산화력을 가져 오염도가 낮은 수계에서 주로 사용되며, 민감도가 K₂Cr₂O₇보다 낮다”고 명시되어 있다. 더불어 “KMnO₄ 기반 COD는 BOD와 큰 차이를 보이며, 이는 유기물 산화 효율의 차이에 기인한다”는 연구 결과 역시 존재한다(LvZongqing, RanX., LiuJ., FengY., ZhongX., 2024). 이를 통해 본 실험에서 COD 값이 BOD 값보다 작은 이유는 KMnO₄를 활용한 COD 측정 방식의 낮은 산화력으로 인하여 유기물이 충분하게 산화되지 못한 데에서 기인하였음을 알 수 있다.

pH 지표의 경우 본 실험에서는 모든 시료가 6.5–8.5 정도의 값을 가지며 산,염기성 변화는 뚜렷하게 나타나지 않았다.

MacConkey Agar을 활용한 세균학적 수질검사는 그람 양성균을 억제하여 그람 음성균만을 선택한다.

Table 8. 그람 양성균과 음성균의 주요 특징 비교

특징	그람 양성균	그람 음성균
세포벽	두꺼운 펩티도글리칸	얇은 펩티도글리칸 + LPS
염색	보라색	분홍/빨강
항생제 감수성	β-lactam에 민감	내성 높은 경향
예시	Staphylococcus, Bacillus	E. coli, Salmonella

그람 양성균과 그람 음성균의 특징을 비교한 table이다.

MacConkey Agar은 crystal violet과 bile salts가 그람양성균의 성장을 억제함으로써 장내 그람음성균만 선택적으로 자라도록 하여 그람 음성균을 선택해 배양한다(Table 3). 또한 배지에는 lactose와 pH 지시약인 neutral red가 포함되어 있어, lactose 발효 여부에 따라 집락 및 주변 배지의 색 변화를 통해 발효성 coliform과 비발효성 Gram-negative 세균을 구분할 수 있다. 기본

영양원인 peptone은 모든 세균의 기본적인 생장에 필요한 영양을 공급한다.

Table 9. MacConkey Agar의 구성 성분과 선택·감별 기능

성분	역할
Crystal violet	Gram-positive 억제
Bile salts	장내세균 선택성 증가
Lactose	발효 여부 시험용 탄소원
Neutral red	발효 시 pH ↓ → 분홍색 변화
Peptone	기본 영양원

그람 음성균을 추출하는 배지인 MacConkey Agar의 구성성분 및 기능이다.

Figure 1 (a)와 (b)에서는 황색 배경에 미세한 점상 colony가 특징인 Type A는 lactose 발효로 인한 색깔 변화를 확인할 수 있다. 또한 점상 colony는 집락 크기가 작고 성장력이 낮은 균주일 것으로 보인다. 한강 시료에서만 발견되었다는 특징을 고려할 때 한강과 같은 자연계의 물에서 흔히 나타나는 혼합 장내세균군 또는 환경성 Gram-negative 미생물일 것으로 보인다. 또한 한강 시료에서만 발견되는 Type B는 불규칙한 모양을 특징으로 하고 Type A의 점상 colony보다 크기가 크다. 이는 *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas* 등의 lactose 비발효성 Gram-negative의 가능성이다. 또는 크기와 색 조합상 성장력이 높은 Gram-negative일 가능성도 있다. 한강시료 뿐 아니라 수돗물, DIW 시료에서 공통적으로 발견된 Type C는 반달·눈썹 모양의 얇은 선이라는 형태적 특징을 가지고 있다. 이는 세균 colony가 아닌, 배지 표면의 drying artifact 또는 미세한 스크래치일 가능성이 매우 높다. 따라서 Type C는 세균 colony가 아니다. Type D는 넓은 황색 변색 영역으로 수돗물, 정수기물에서 관찰된다. 황색으로 보아 극소량의 lactose 발효성 세균에 의한 산이 생성되었을 것으로 추측할 수 있다. Type A와 달리 colony가 육안으로 구분되지 않는다. 이는 오염수준이 심각하지 않은 수도나 정수기에서 관찰 가능한 부분으로 생각할 수 있다. Type E는 속이 빈 원형 구조로 집락의 형태적 특징을 보이지 않는다. 정수기물에서 주로 관찰되고 DIW에서도 일부 관찰된다. 이 또한 Type C처럼 세균 colony가 아니다. 기포의 흔적으로 해석할 수 있다. 세균 colony는 Type A,B,D이고 Type C,E는 형태적 특징이 있으나 세균 colony가 아니다.

이를 통하여 Type A와 Type B가 모두 나타난 한강물은 Gram-negative 미생물과 lactose 비발효성 Gram-negative 세균이 존재 가능하고 두 유형이 동시에 발견되었다는 점에서, 한강물은 다양한 Gram-negative 세균 집단이 공존하는 환경이라는 것을 알 수 있다. 또한 배지의 황색화 정도가 수돗물·정수물에 비해 더 뚜렷했기 때문에 상대적으로 세균학적 오염도가 높다고 해석할 수 있다. DIW와 수돗물에서는 배지 전반에 뚜렷한 colony가 거의 관찰되지 않았고, 주로 Type C와 Type E와 같은 세균 colony가 아닌 Type만이 나타났다. 이는 두 시료 모두 Gram-negative 세균이 거의 존재하지 않음을 의미한다. 수돗물에서 관찰된 Type D의 옅은 황색 변색 구역은 극소량의 lactose 발효성 세균이 존재하여 미량의 산이 생성되었음을 시사하나, 개별 colony가 눈에 띄지 않고 변색 범위가 제한적이기 때문에 수돗물의 오염 수준이 낮다고 해석할 수 있다. 정수기물에서는 Type D와 Type E가 확인되었지만 수도물과 비슷하게 배지 상에서 활발한 colony 형성은 나타나지 않았기 때문에 세균 오염 수준은 낮은 것으로 판단된다.

세균학적 수질 검사 결과를 BOD, COD, pH 지표와 통합해 해석하면 다음과 같다. 한강물은 BOD가 높고 COD도 상대적으로 높은 값을 보였으며(Table 7), MacConkey 배지에서도 Gram-negative 세균의 존재가 확인되었다. 이는 유기물 오염과 세균학적 오염이 동시에 존재하는 것으로 해석할 수 있다. 반면 정수기물과 수돗물은 BOD와 COD가 낮고 MacConkey 배지에서도 colony 형성이 거의 없어, 유기물 오염도와 세균학적 오염도 모두 낮은 양호한 수질로 판단할 수 있다. DIW는 모든 지표에서 대조군으로서 각 지표들에 대한 정상 범위 내의 값을 가졌다. 다만 보다 정확한 세균 정량을 위해서는 필터 멤브레인법(MF method), MPN법, chromogenic agar, 또는 Colilert와 같은 형광 기반 대장균 검출법을 사용하는 것이 적합하다. 이러한 기법들은 저농도 시료에서도 신뢰도 높은 검출이 가능하므로 수질 위생학적 평가의 정확도를 크게 높일 수 있다.

본 연구에서는 COD, BOD, pH, 세균학적 지표를 기반으로 시료를 비교하였으나, 이는 주로 유기오염도의 평가에 초점이 맞춰져 있어 보다 정확하고 공적으로 인정된 평가를 위해서는 환경부 수질환경기준에서 사용되는 총질소(T-N), 총인(T-P), SS 등 핵심 항목이 추가로 필요하다. 특히 한강은 부영양화와 조류 증가에 민감한 수계이므로 Chl-a와 대장균군을 함께 고려하는 것이 서울시와 환경부에서 공식적으로 사용하는 수질평가지표(WPI) 방식과 부합한다. 이러한 항목을 포함할 경우, 유기오염뿐 아니라 영양염 오염, 부유물질 영향, 미생물 오염까지 통합적으로 평가할 수 있어 수질 등급 산정의 신뢰도가 크게 향상될 것이다.

본 실험은 BOD·COD·pH와 MacConkey Agar 배양을 통해 물리·화학적 지표와 세균학적 지표를 종합적으로 비교한 결과, 한강물은 유기오염도와 세균학적 오염 측면에서 다른 수원보다 높은 부담을 갖는 것이 확인되었다. 이는 자연수계에서 생분해성 유기물과 Gram-negative 세균이 동시에 유입되는 특성을 반영하며, BOD·COD와 같은 산소요구량 지표 및 장내세균군 검사가 수질의 위생학적 상태를 판단하는 데 유효함을 보여준다. 반면 DIW·수돗물·정수기물은 BOD·COD 모두 낮고 MacConkey 배지에서도 colony가 거의 형성되지 않아 상대적으로 양호한 수질을 유지하는 것으로 나타났다.

본 실험에는 방법론적 한계 및 실험 과정에서의 오차가 존재하였다. COD실험에서는 황산은 첨가 후 플라스크 밀봉이 불완전하여 시료와 황산은 분말을 섞는 과정에서 시료가 일부 손실되었다. 또한 중탕 과정에서 물이 완전히 증발하여 가열 조건이 일정하게 유지되지 못하였다. MacConkey Agar 배지를 이용한 세균학적 실험 방법에서는 멸균 루프를 소독하는 과정에서 불꽃을 미리 꺼 완전한 멸균이 이뤄지지 않았을 가능성이 있다. 이런 실험 과정에서의 오차 이외에도 KMnO₄를 활용한 COD측정 방식의 낮은 산화력에 의한 과소평가, BOD₅에서 NBOD를 시간적으로 측정하지 못하는 한계, MacConkey Agar 배지의 배양 결과를 육안으로 분석하는 정성적인 방법은 해석자에 따라 편차가 발생할 수 있다. 시각적 해석만으로 세균학적 오염도를 판단하는 것에 한계가 있다는 것이다.

이러한 한계를 극복하기 위해서는 실험 과정의 정밀도 향상이 필요하다. 더불어 영양염 오염과 부영양화 가능성을 평가하는 핵심 지표인 T-N·T-P와 탁도 및 용질 농도 변화를 반영하여 수체 특성을 설명하는 SS와 EC, 생태 반응 수준의 수질 정보를 제공하는 chlorophyll-a 등 수질의 복합적 특성을 반영할 수 있는 지표를 추가적으로 조사하는 것은 결과의 정밀성을 향상하는데 도움이 될것이다. 또한 육안으로 형태를 분석하여 해석자의 주관에 따라 결과가 달라질 수 있는 MacConkey Agar 대신 특정 효소 반응으로 균종을 색으로 구분하는 크로모제닉 배지나, 일정 부피를 여과하여 colony-forming unit을 직접 계수하는 멤브레인 필터법과 같은 분석법을

도입한다면 정확성이 더 올라갈 것이다.

VI. References

1. Aguilar-Torrejón, J. A., Balderas-Hernández, P., Roa-Morales, G., López-Reyes, J., Bizarro, M., & Bandala, E. R. (2023). Relationship, importance, and development of analytical techniques: COD, BOD, and TOC in water—An overview through time. *SN Applied Sciences*, 5, 118. <https://doi.org/10.1007/s42452-023-05318-7>
2. Chidiac, S., El Najjar, P., Ouaini, N., El Rayess, Y., & El Azzi, D. (2023). A comprehensive review of water quality indices (WQIs): History, models, attempts and perspectives. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 22(2), 349–395. <https://doi.org/10.1007/s11157-023-09650-7>
3. Vigiak, O., Grizzetti, B., Udiás-Moinelo, A., Zanni, M., Dorati, C., Bouraoui, F., & Pistocchi, A. (2019). Predicting biochemical oxygen demand in European freshwater bodies. *Science of the Total Environment*, 666, 1089–1105. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.252>
4. Lv, Z., Ran, X., Liu, J., Feng, Y., Zhong, X., & Jiao, N. (2024). Effectiveness of chemical oxygen demand as an indicator of organic pollution in aquatic environments. *Ocean–Land–Atmosphere Research*, 3, 0050. <https://doi.org/10.34133/olar.0050>
5. Cho, H.-S., Kim, K.-R., Lim, G.-C., & Bae, K.-S. (2012, December 30). A Study on Long-term Variations of BOD and COD as Indicators of Organic Matter Pollution in the Han River. *Korean Journal of Limnology*. Korean Society of Limnology. <https://doi.org/10.11614/ksl.2012.45.4.47>